

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-158184

(43)Date of publication of application : 16.06.1998

(51)Int.Cl.

A61K 35/78
A61K 35/78
A61K 35/78
A61K 35/78
A61K 35/78
A61K 35/78
A61K 35/78

(21)Application number : 08-317697

(71)Applicant : KAO CORP

(22)Date of filing : 28.11.1996

(72)Inventor : HASE TADASHI
MURASE TAKATOSHI
TOKIMITSU ICHIROU

(54) CELL ADHESION INHIBITOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject inhibitor useful for cancer metastasis inhibitor, an antiallergic agent, etc., safe and excellent in inhibitory action on cell adhesion, comprising a plant belonging to the genus onion or its extract as an active ingredient.

SOLUTION: This inhibitor comprises an extract which is obtained, for example, by immersing 100g of dried ground material of a plant belonging to the genus onion in 1L of ethanol, extracting at a room temperature for 7 days with stirring occasionally, filtering the prepared extracted solution, allowing the filtrate to stand at 5° C for 3 days, filtering the filtrate again to give a supernatant liquid and an extract. In the case of oral administration, a dose is 0.1-2,00mg (dried substance) per adult daily and is administered once to several times dividedly.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

BEST AVAILABLE COPY

<http://www19.ipdl.jpo.go.jp/PA1/result/detail/main/wAAAinayuHDA410158184P3....> 2004/09/28

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-158184

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月16日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
A 6 1 K 35/78	ADU	A 6 1 K 35/78	ADUC
	ABC		ABC
	ABE		ABE
	ABF		ABF
	ABG		ABG

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平8-317697	(71) 出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号
(22) 出願日	平成8年(1996)11月28日	(72) 発明者	長谷 正 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会 社研究所内
		(72) 発明者	村瀬 孝利 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会 社研究所内
		(72) 発明者	時光 一郎 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会 社研究所内
		(74) 代理人	弁理士 有賀 三幸 (外3名)

(54) 【発明の名称】 細胞接着抑制剤

(57) 【要約】

【解決手段】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする細胞接着抑制剤。

【効果】 細胞毒性が低く、優れた細胞接着抑制作用を有し、抗アレルギー剤、抗炎症剤、癌転移抑制剤、免疫抑制剤、慢性関節リウマチ及び／又は慢性関節炎予防治療剤、動脈硬化症予防治療剤として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする細胞接着抑制剤。

【請求項2】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする癌転移抑制剤。

【請求項3】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする抗アレルギー剤。

【請求項4】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする免疫抑制剤。

【請求項5】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする抗炎症剤。

【請求項6】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする慢性関節リウマチ及び／又は慢性関節炎予防治療剤。

【請求項7】 メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする動脈硬化症予防治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は癌転移抑制剤、抗アレルギー剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、慢性関節リウマチ予防治療剤、慢性関節炎予防治療剤及び動脈硬化症予防治療剤として有用な細胞接着抑制剤に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、各種の炎症、アレルギー反応、免疫反応、癌転移、動脈硬化等に関する分子レベルでの研究が進展し、これらの疾患には共通して白血球と血管内皮細胞、癌細胞と血管内皮細胞などの細胞間接着が大きく関与していることが明らかとなってきた。

【0003】生体に種々の刺激〔化学物質、日光（紫外線）、ウイルス感染、細菌感染、外傷等〕が加わると、一連の炎症反応が誘起され、血管拡張、血管透過性の亢進に続き、好中球、マクロファージ、T細胞等の白血球が炎症巣へと浸潤していく。また、外部から生体に異物が侵入すると、生体では一連の免疫反応が誘発され、その部位に白血球が多数浸潤し、いわゆる炎症反応が起きる。ここで、白血球が血管から組織内へ浸潤する際に、白血球と血管内皮細胞はそれぞれの細胞表面に存在する特異的な細胞接着分子を介して接着することが知られている。血管内皮細胞がIL-1、TNF等のサイトカイン類、活性酸素などによって活性化されると、細胞表面にICAM-1、ELAM-1、VCAM-1、GMP-140等の接着分子が誘導される。すると白血球はその表面に発現しているLFA-1、Mac-1、Sialyl Lewis X(sLe^x)、Sialyl Lewis a(sLe^a)、VLA-4等の分子を介して内皮細胞に接着し、接着した白血球の大部分はそのまま組織内へ移行し、一連の炎症、免疫反応が進行していく。従って、白血球と血管内皮細胞との接着は、白血球の浸潤のみならず、一連の炎症、免疫反応の過程において極めて重要なステップであると考えられている。

【0004】また、種々の免疫細胞、特にT細胞の抗原

認識と活性化における細胞接着分子の役割も明らかになってきた。T細胞の抗原認識とそれに続く活性化過程において中心的な役割を果たすのは、T細胞受容体(TCR)とCD3の複合体(TCR/CD3)であるが、T細胞上のTCRが抗原提示細胞(APC)上の抗原ペプチドと主要組織適合抗原(MHC)の複合体を効率良く認識するには、この両細胞間の結合に働くいくつかの接着分子の介在が必要となる。T細胞とAPCは最初にT細胞上のLFA-1とCD2がそれぞれAPC上のICAM-1とLFA-3をリガンドとする細胞間での結合により抗原非特異的に接着し、T細胞上のTCRがAPC上の抗原/MHC複合体を認識すると、LFA-1を介した結合が強まり、抗原特異的な接着が起こる。このAPCとの安定な接着によりT細胞上のTCRによるAPC上の抗原の認識が促進され、TCR/CD3複合体から細胞障害性あるいはリンホカインの産生といったT細胞機能の発現を惹起する強いシグナルが発せられる。更に、これらの接着分子はT細胞-APC間の結合を高めてTCRによる抗原認識を助けることによってT細胞の抗原反応性を増強するだけでなく、それら自身がT細胞の活性化を調節するシグナルを与えることも明らかとなっている。T細胞は上記のようにTCR/CD3複合体によりAPCに提示された抗原ペプチドを認識し、抗原特異的に活性化するが、このTCR/CD3を介した刺激だけではT細胞は十分な増殖分化を誘導できないだけでなく、その後のいかなる刺激にも反応しない不応答状態又はクローン麻痺(clonal anergy)と呼ばれる状態に陥る。そして、T細胞の活性化にはTCR/CD3を介した刺激以外のAPCから供給される第二の刺激(副刺激)が必要となる。これまでにT細胞の活性化に関わる第二の刺激として、T細胞/APC上のそれぞれCD28/B7-1、CD28/B7-2、LFA-1/ICAM-1、VLA-4/VCAM-1、CD2/LFA-3、CD40L/CD40等が知られており、これらの接着分子は免疫応答の調節において、極めて重要な役割を果たしていることが明らかにされている。そこで、このような接着分子を介する細胞間接着、細胞間相互作用を制御し、炎症、免疫反応をコントロールしようとするいわゆるAnti-adhesion therapyの試みがされるようになり、実際に細胞接着を抑制する物質は種々の動物モデル(虚血再灌流障害、喘息、皮膚炎、補体活性化や免疫複合体による肺障害、腎障害等)に適用され、良好な改善効果が認められている。

【0005】一方、癌転移は(1)原発巣で増殖した癌細胞の離脱と血管内及びリンパ管内への遊離、(2)癌細胞の血管内及びリンパ管内での移動、(3)癌細胞の末梢血管内皮への接着、(4)癌細胞の基底膜及び結合組織内への浸潤による転移巣の成立という4つの段階を経て成立すると考えられている。このうち細胞接着分子が大きな役割を演じるのは、主に原発巣からの離脱の局面と血管内皮細胞及びリンパ管内皮細胞への接着の局面の2点である。血管内皮細胞上に発現し、癌転移に関与する分子としてICAM-1、VCAM-1、ELAM-1等が知られており、それ

それに対応する白血球側のリガンドはLFA-1、VLA-4、Sialyl Lewis X(sLe^x)及びSialyl Lewis a(sLe^a)であることが同定されている。悪性細胞のうち白血病細胞にはこれらの細胞接着分子とそのリガンドがしばしば発現されており、白血病細胞の血管外への浸潤に関与していると考えられている。メラノーマや神経芽細胞腫、骨肉腫ではVCAM-1/VLA-4系で血管内皮細胞に接着するものが多いことが知られている。また、胃癌、大腸癌、肺癌、肝癌、脾癌等では、ELAM-1が主役を演じていると考えられている〔「接着分子の発現調節と臨床応用」(メジカルビュー社, 1991年), Nature, Vol.364, 149-155 (1993), Science, Vol.247, 456-459(1990), Annual Review 免疫 1989, 175-185, Trends in Glycoscience and Glycotechnology, Vol.4, No.19, 405-414(1992), 実験医学 Vol.10, No.11, 1402-1413(1992), 実験医学 Vol.11, No.16, 2168-2175(1993), Annual Review 免疫 1989, 175-185, 感染・炎症・免疫 Vol.19(2), 129-153 (1989), 感染・炎症・免疫 Vol.24(3), 158-165(1994), Molecular Medicine, Vol.32(4), 348-355(1995), 医学のあゆみ Vol.174(1), 41-45(1995), 臨床免疫 Vpl.27 (11), 1302-1308(1995), 臨床免疫 Vol.27(4), 388-392 (1995), 実験医学 Vol.10(11), 1388-1395(1992), 実験医学 Vol.12(8), 906-964(1994), 医学のあゆみ Vol.16 9(1), 108-111(1994), 医学のあゆみ Vol.169(1), 103-107(1994), Advances in Immunology, Vol.58, 345-416)。

【0006】粥状動脈硬化発生の初期には、細胞内に大量のエステル化コレステロールを蓄積した泡沫細胞と呼ばれる単球マクロファージ由来の細胞の、血管内皮下での局所的な集簇が認められる。また、粥状動脈硬化巣にはTリンパ球の存在も知られている。このような白血球の動脈硬化部位への集簇にも、血管内皮細胞上の細胞接着分子の関与が知られており、動脈硬化発症過程における重要な初期ステップとして認識されている。

【0007】このように、炎症、免疫反応、動脈硬化や癌の転移には細胞接着分子を介した白血球や癌細胞と血管内皮細胞との細胞接着が極めて重要な役割を果たしていることが明らかとなっており、また理論的にも動物実験レベルにおいても細胞接着抑制物質が炎症、免疫反応、動脈硬化や癌転移の抑制に有効であることが広く示され、認識されるに至っていることから、本出願人を含め多くの研究者が炎症、アレルギー反応、免疫反応、癌転移、動脈硬化等の抑制や制御を目的に細胞接着抑制物質の探索を行っている。

【0008】そしてこれまでにこれらの細胞接着を抑制する物質としては細胞表面接着分子に対する抗体やリガンド(sLe^x)、N-(フルオレニル-9-メトキシカルボニル)アミノ酢酸、3-デアザアデノシン等〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.88, 355-359(1991), Immunopharmacology, 23, 139-149(1992), J. Biological Chemistr

y, Vol.267(13), 9376-9382(1992), J. Immunology, Vol.144(2), 653-661(1990)]等が報告されている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、その効果は未だ満足できるものではなかった。従って、本発明の目的は癌転移抑制剤、抗アレルギー剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、動脈硬化症予防治療剤等として有用な、安全で優れた効果を有する細胞接着抑制剤を提供することにある。

10 【0010】

【課題を解決するための手段】かかる実状において、本発明者らは、数多くの植物抽出物の細胞接着抑制作用に関し試験を行った結果、メギ科植物の又はその抽出物が優れた細胞接着抑制作用を有し、抗アレルギー剤、抗炎症剤、免疫抑制剤、癌転移抑制剤、慢性関節リウマチ予防治療剤、慢性関節炎予防治療剤、動脈硬化症予防治療剤等として有用であるという全く新規な事実を見出し、本発明を完成するに至った。

20 【0011】すなわち、本発明はメギ科植物又はその抽出物を有効成分とする細胞接着抑制剤を提供するものである。

【0012】また、本発明は、メギ科植物又はその抽出物を有効成分とする癌転移抑制剤、抗アレルギー剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、慢性関節リウマチ予防治療剤、慢性関節炎予防治療剤及び動脈硬化症予防治療剤を提供するものである。

【0013】

30 【発明の実施の形態】本発明で用いるメギ科植物としては、特に限定されるものではなく、例えば、ポドフィラム属植物(例: Podophyllum peltatum, Podophyllum emodi, Podophyllum pleianthum, Podophyllum versipell e, Podophyllum emodi等)、メギ属植物(例: Berberis aristata, Berberis sieboldii, Berberis amurensis, Berberis thunbergii, Berberis tschonoskii等)、ナンテン属植物(例: Nandina domestica, Mahonia japonica等)が挙げられる。本発明においては、これらのうちポドフィラム属植物、メギ属植物が特に好ましい。また、これらの植物は1種を単独で又は2種以上を組合せて用いることができる。

40 【0014】本発明においては、メギ科植物は主に葉部、小枝部等(以下「原体」と称する)の乾燥粉碎物をそのまま使用することもできるが、それらの抽出物を使用するのが好ましい。メギ科植物抽出物は、メギ科植物の主に葉部、小枝部等を乾燥又は乾燥することなく粉碎した後、常温下又は加温下で溶剤により、又はソックスレー抽出器等の抽出器具を用いて抽出することにより得ることができる。なお、本発明におけるめぎ科植物抽出物とは、各種溶媒抽出液又はその希釈液、濃縮液もしくは乾燥末を意味するものとする。

50 【0015】溶媒抽出物は、メギ科植物原体又はその乾

燥末を水、有機溶媒（石油エーテル、*n*-ヘキサン、シクロヘキサン、トルエン、ベンゼン等の炭化水素系溶媒；ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類；ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒；酢酸エチル等のエステル系溶媒；アセトン等のケトン類；ピリジン等の塩基性溶媒；ブタノール、プロパノール、エタノール、メタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコール等の一価又は多価アルコール系溶媒など）、水性アルコール等を用い、通常3〜70℃で抽出処理することにより得られる。

【0016】メギ科植物原体からの好ましい具体的抽出例としては、メギ科植物の乾燥粉碎物100gをエタノール1リットルに浸漬し、室温で時々攪拌しながら7日間抽出を行い、得られた抽出液をろ過し、ろ液を5℃で3日間静置した後、再度ろ過して上澄みを得る方法が挙げられる。

【0017】上記抽出物は、そのまま本発明の細胞接着抑制剤その他の医薬の有効成分として用いることができるが、当該抽出物を濃縮後、更に適当な分離手段、例えばゲルろ過やシリカゲルカラムクロマト法、高速液体クロマト法等により、活性の高い画分を分画して用いることもできる。

【0018】以上のメギ科植物又はその抽出物は、そのまま、又は希釈、濃縮もしくは凍結乾燥した後、粉末状又はペースト状に調製し、適宜製剤化して用いることができる。また、更に必要により活性炭等を用いて脱臭、脱色等の精製処理を施してから用いることもできる。

【0019】メギ科植物又はその抽出物は細胞毒性が低く、優れた細胞接着抑制作用を有し、抗アレルギー剤、抗炎症剤、癌転移抑制剤、免疫抑制剤、慢性関節リウマチ及び／又は慢性関節炎予防治療剤、動脈硬化症予防治療剤等として有用である。

【0020】本発明の医薬には、メギ科植物又はその抽出物のほかに、既存の抗炎症剤、抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤等の薬物を任意に組合わせて配合することができ、また、通常用いられる賦形剤及びその他の添加剤とともに任意の形態に製剤化される。かかる賦形剤、添加剤の例として、固形状のものとしては乳糖、カオリン、ショ糖、結晶セルロース、コーンスターチ、タルク、寒天、ペクチン、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、レシチン、塩化ナトリウム等が挙げられ、液状のものとしてはグリセリン、落花生油、ポリビニルピロリドン、オリーブ油、エタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール、水等が挙げられる。

【0021】本発明の製剤の剤型としては特に限定されず、例えば錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、ローチ剤、シロップ、乳液、軟ゼラチンカプセル、クリーム、ゲル、ペースト、スプレー、注射剤等が挙げられる。なお、本発明の製剤の利用は医薬品に限られるもの

ではなく、医薬部外品、化粧品、食品、飲料等に配合することもできることはいうまでもない。

【0022】本発明の製剤は、その剤型に応じて経口、経腸、外用、注射等いずれの経路によってもヒトに投与することができる。またその投与量は、年齢、体重、性別、症状、治療効果、投与方法、処理時間等の種々の要因によって異なり、特に限定されないが、メギ科植物抽出物固形分（乾固物）として、経口投与の場合は通常大人1人当たり1回に0.1〜2000mg、特に10〜1000mgの範囲を1日1回〜数回に分けて投与することが好ましい。また、非経口投与の場合は、通常大人1人あたり1回に0.1〜2000mg、特に10〜500mgの範囲を1日1回〜数回に分けて投与することが好ましい。

【0023】

【実施例】次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0024】製造例1 Berberis aristata抽出物の製造(1)：Berberis aristata（葉部、小枝部混合物）粉碎物1kgを8リットルのエタノールに常温で7日間浸漬し、エタノール可溶成分を抽出した。次いで、抽出液を分離した残渣について同様の操作を再度行い、合計16リットルの抽出液を得た。この抽出液の溶媒を留去、減圧乾固し、抽出物75gを得た。

【0025】製造例2 Berberis aristata抽出物の製造(2)：Berberis aristata（葉部、小枝部混合物）粉碎物1kgを8リットルのエタノールに常温で7日間浸漬し、エタノール可溶成分を抽出した。次いで、抽出液を分離した残渣について同様の操作を再度行い、合計16リットルの抽出液を得た。この抽出液の溶媒を留去して1リットルまで濃縮した後、活性炭30gを加え、攪拌し、脱臭・脱色処理を施した後、活性炭をろ別し、ろ液を減圧濃縮し、抽出物60gをシロップとして得た。

【0026】製造例3 Berberis aristata抽出物の製造(3)：製造例1において、8リットルのエタノールの代わりに8リットルの75%水性エタノールを用いる以外は同様に操作し、抽出物70gを得た。

【0027】製造例4 Berberis aristata抽出物の製造(4)：製造例1において、8リットルのエタノールの代わりに8リットルの*n*-ヘキサンを用いる以外は同様に操作し、抽出物85gを得た。

【0028】製造例5〜7

製造例1と同様にして、Podophyllum peltatum、Podophyllum tumemodi及びPodophyllum pleianthumの抽出物をそれぞれ80g、78g及び84g得た。

【0029】試験例1 白血球-血管内皮細胞接着抑制試験：96穴培養プレート上にコンフルエントとなったヒト血管内皮細胞に対し、最終濃度0.001重量%となるように被験物質を添加した。18時間後にヒトIL-1αを最終濃度2.5ng/mlとなるように添加し、6時間培養した。培養液除去後、RFMI-1640培地で2回洗浄した後、あら

かじめ¹²⁵C rで標識したヒト末梢白血球 (10^6 cells/ml) を200 μ l添加し、培養した。30分後、未接着細胞を除去し、接着細胞を溶解後その放射活性を測定した。その結果、表1に示すようにメギ科植物抽出物は、白血球と血管内皮細胞間における優れた細胞接着抑制活性を有することが判明した。従って、メギ科植物又はその抽出*

*物は、白血球が種々の細胞に接着することに起因する疾患、例えばアレルギー疾患、炎症性疾患、免疫疾患の予防治療剤として有用である。

【0030】

【表1】

被験物質	白血球接着抑制率 (%)
Berberis aristataエタノール抽出物	88
Berberis aristataヘキササン抽出物	89
Berberis aristata酢酸エチル抽出物	82

【0031】試験例2 癌細胞-血管内皮細胞接着抑制試験：96穴培養プレート上にコンフルエントとなったヒト血管内皮細胞に対し、最終濃度0.001重量%となるように被験物質を添加した。18時間後にヒトIL-1 α を最終濃度2.5ng/mlとなるように添加し、6時間培養した。培養液除去後、RPMI-1640培地で2回洗浄した後、あらかじめ¹²⁵C rで標識したヒト骨髓腫瘍細胞HL-60 (10^6 ce※

※115/ml) を200 μ l添加し、培養した。30分後、未接着細胞を除去し、接着細胞を溶解後、その放射活性を測定した。その結果、表2に示すようにメギ科植物抽出物は、癌細胞の転移に重要な、癌細胞と血管内皮細胞の接着を強く抑制することが判明した。

【0032】

【表2】

被験物質	癌細胞接着抑制率 (%)
Berberis aristataエタノール抽出物	88
Berberis aristataヘキササン抽出物	88
Berberis aristata酢酸エチル抽出物	79

【0033】試験例3 血管内皮細胞に対する毒性試験（細胞形態、DNA合成）：形態的变化に対しては倒立顕微鏡による目視判定とし、DNA合成は常法に従い³H-チミジンの取り込みを指標に、被験物添加後24時間培養の最終8時間における取り込み量を液体シンチレーションカウンタを用いて評価した。なお、被験物濃度は0.★

★001重量%とした。その結果、表3に示すようにメギ科植物抽出物はいずれも血管内皮細胞に対し、低毒性であった。

【0034】

【表3】

被験物質	形態変化	DNA合成抑制率 (%)
Berberis aristataエタノール抽出物	特になし	5
Berberis aristataヘキササン抽出物	特になし	3
Berberis aristata酢酸エチル抽出物	特になし	4

【0035】試験例4 アジュバント関節炎抑制効果：Wistar系ラットの体重並びに両側後肢の容積を測定後、右後肢の容積及び体重の平均がほぼ均一になるように群分けし、エーテル麻酔下にて左後肢footpadにMycobacterium butyricum/流動パラフィン (0.5mq/0.1ml/匹) を皮下投与した。製造例1及び5で得た抽出物を含むメギ科植物エキス（以下、メギ科植物エキスとは、前記製造例において得た抽出物を乾燥固形分として1.0重量%含有するようにエタノールに溶解したものをいう）投与群（4,40,400mq/kg/day）、対照薬物として

のインドメタシン投与群、デキサメタゾン投与群（各0.4mq/kg/day）、溶媒（エタノール）投与群及び関節炎非誘導群を設け、各被験物質をアジュバント関節炎惹起日より1日1回、21日間腹腔内投与し、22日目に右後肢容積を測定し、関節炎抑制率を算定した。その結果、表4に示すようにメギ科植物エキスは強いアジュバント関節炎抑制効果を有することが判明した。

【0036】

【表4】

被 験 物 質	投与量 (mg/kg/day)	関節炎抑制率 (%)	有意差*
溶 媒		0.0	
Berberis aristata	4.0	11.2	N.S.
Berberis aristata	40.0	42.3	P<0.05
Podophyllum peltatum	4.0	10.3	P<0.01
Podophyllum peltatum	40.0	39.5	P<0.05
インドメタシン	0.4	59.4	P<0.05
デキサメタゾン	0.4	85.3	P<0.001

* : 溶媒投与群に対する有意差

【0037】試験例5 II型コラーゲン関節炎抑制効果：Wistar系ラットの体重並びに両側後肢の容積を測定後、右後肢の容積及び体重の平均がほぼ均一になるように群分けし、当日及び14日後に尾根部皮下にウシ由来II型コラーゲン（2mg/ml 0.01N酢酸）100μlを投与した。メギ科植物エキス（製造例1及び5）投与群（4,40,400mg/kg/day）、対照薬物としてのインドメタシン投与群、デキサメタゾン投与群（各0.4mg/kg/day）、溶媒

*（エタノール）投与群及び関節炎非誘導群を設け、各被験物質をコラーゲン関節炎惹起日より1日1回、21日間腹腔内投与し、22日目に両足後肢容積を測定し、関節炎抑制率を算定した。その結果、表5に示すようにメギ科植物エキスは強いコラーゲン関節炎抑制効果を有することが判明した。

【0038】

*20 【表5】

被 験 物 質	投与量 (mg/kg/day)	関節炎抑制率 (%)	有意差*
溶 媒		0.0	
Berberis aristata	4.0	8.2	N.S.
Berberis aristata	40.0	38.9	P<0.05
Podophyllum peltatum	4.0	10.1	N.S.
Podophyllum peltatum	40.0	40	P<0.05
インドメタシン	0.4	53.3	P<0.05
デキサメタゾン	0.4	91.2	P<0.001

* : 溶媒投与群に対する有意差

【0039】試験例6 ウサギ動脈硬化モデルにおける細胞接着抑制効果：ニュージーランド白色ウサギを使用した。高コレステロール食（1%コレステロール，9%コナツツオイル，1%コーンオイル；200g/day 摂食）での飼育により、動脈における硬化果形成の第一段階といわれる、動脈内皮への白血球の接着を誘導した。メギ科植物エキス（製造例1及び6）投与群（4,40,400mg/kg/day）、対照薬物としてのプロブコール投与

群（4mg/kg/day）、溶媒（エタノール）投与群及び通常食群を設け、各被験物質を飼育開始日より1日1回経口投与した。6週間後に大動脈弓部を採取し、光学顕微鏡下にて動脈内皮細胞への白血球の接着数（個/mm²）を算定した。その結果、表6に示すようにメギ科植物エキスは強い細胞接着抑制効果を有することが判明した。

【0040】

【表6】

被 験 物 質	投与量 (mg/kg/day)	白血球接着数 (個/mm ²)	有意差*
溶 媒		90.3	
Berberis aristata	4.0	78.2	P<0.05
Berberis aristata	40.0	50.0	P<0.05
Podophyllum pummodi	4.0	77.7	P<0.05
Podophyllum pummodi	40.0	62.2	P<0.05
プロブコール	4.0	62.9	P<0.05

* : 溶媒投与群に対する有意差

【0041】試験例7 ウサギ動脈硬化モデルにおける線維化及び粥状変性抑制効果：ニュージーランド白色ウサギを使用した。高コレステロール食（1%コレステロール、9%ココナッツオイル、1%コーンオイル；200g/day摂食）での飼育により、動脈硬化巣及びその前段階である粥状変性を誘導した。メギ科植物エキス（製造例1及び7）投与群（4, 40, 400mg/kg/day）、対照薬物としてのプロブコール投与群（4mg/kg/day）、溶媒（エタノール）投与群及び通常食群を設け、各被験物質を飼*20

* 育開始日より1日1回経口投与した。30週間後に大動脈弓部を採取し、パラフィン包埋切片の膠原線維染色及び大動脈内腔の脂質染色を行い、光学顕微鏡下にて膠原線維染色陽性面積（%）及び脂肪染色陽性面積（%）を算定した。その結果、表7及び表8に示すようにメギ科植物エキスは強い線維化及び粥状変性抑制効果を有することが判明した。

【0042】

【表7】

被 験 物 質	投与量 (mg/kg/day)	膠原線維染色陽性面積 (%)	有意差*
溶 媒		45.3	
Berberis aristata	4.0	40.2	N. S.
Berberis aristata	40.0	17.3	P<0.05
Podophyllum pleianthum	4.0	39.8	N. S.
Podophyllum pleianthum	40.0	10.2	P<0.05
プロブコール	4.0	10.2	P<0.05

* : 溶媒投与群に対する有意差

【0043】

※ ※ 【表8】

被 験 物 質	投与量 (mg/kg/day)	脂肪染色陽性面積 (%)	有意差*
溶 媒		49.0	
Berberis aristata	4.0	44.4	N. S.
Berberis aristata	40.0	10.8	P<0.05
Podophyllum pleianthum	4.0	33.3	P<0.01
Podophyllum pleianthum	40.0	10.5	P<0.01
プロブコール	4.0	9.9	P<0.01

* : 溶媒投与群に対する有意差

【0044】実施例1 錠剤

下記成分を用い、常法に従って、直径9mm、重量200mgの錠剤を製造した。

	(g)
製造例1で得たBerberis aristata抽出物	1000
ヒドロキシプロピルセルロース	800
軽質無水ケイ酸	200
乳糖	500
結晶セルロース	500
タルク	500
【0045】実施例2 硬カプセル剤用充填薬剤	
下記成分を用い、常法に従って、硬カプセル剤用充填薬剤を製造した。	

	(g)
製造例2で得たBerberis aristata抽出物	1000
結晶セルロース	1000
乳糖	1500
軽質無水ケイ酸	200

【0046】実施例3 顆粒剤
下記成分を用い、常法に従って、顆粒剤を製造した。

	(g)
製造例4で得たBerberis aristata抽出物	200
乳糖	200
ヒドロキシプロピルセルロース	300
タルク	15

【0047】実施例4 クリーム
下記成分を常法に従って混合し、クリームを製造した。*

(組成)	(重量%)
製造例5で得たPodophyllum peltatum抽出物	1.0
コレステロール	0.5
コレステリルイソステアレート	1.0
ポリエーテル変性シリコーン	1.5
環状シリコーン	20.0
メチルフェニルポリシロキサン	2.0
メチルポリシロキサン	2.0
硫酸マグネシウム	0.5
55%エタノール	5.0
カルボキシメチルキチン	0.5
精製水	残量
計	100.0

【0048】実施例5 軟膏
下記成分を常法に従って混合し、軟膏を製造した。

(組成)	(重量%)
製造例6で得たPodophyllum lunemodi抽出物	3
コレステリルイソステアレート	3
流動パラフィン	10
グリセリルエーテル	1
グリセリン	10
白色ワセリン	73
計	100

【0049】実施例6 クリーム
下記成分を常法に従って混合し、クリームを製造した。

(組成) (重量%)	
製造例7で得たPodophyllum pleianthum抽出物	1.0
コレステロール	0.5
コレステリルイソステアレート	1.0
ポリエーテル変性シリコーン	1.5
環状シリコーン	20.0
メチルフェニルポリシロキサン	2.0
メチルポリシロキサン	2.0
硫酸マグネシウム	0.5
55%エタノール	5.0
カルボキシメチルキチン	0.5
グリチルリチン酸ジカリウム	0.5
精製水	残量
計	100.0

【0050】実施例7 クリーム
下記処方に従い、成分(1)~(5)を加熱溶解して混合し、70℃に保ち油相とする。分(6)~(12)を(14)に均一に分 ※

※ 散し、75℃に保ち水相とする。油相に水相を加えて乳化分散し、成分(13)を加えてかき混ぜながら30℃まで冷却してクリームを製造した。

(組成)	(重量%)
(1) 製造例1で得たBerberis aristata抽出物	1.0
(2) スクワラン	11.5
(3) セチルアルコール	2.5
(4) ポリオキシエチレン(20)ソルビタン モノステアレート	1.0

15	
(5) ポリオキシエチレン(20)セチルエーテル	2.5
(6) 1,3-ブチレングリコール	4.0
(7) プロピレングリコール	3.5
(8) 二酸化チタン	7.0
(9) ベンガラ	0.5
(10)黄酸化鉄	0.2
(11)黒酸化鉄	0.1
(12)バラオキシ安息香酸メチル	0.3
(13)香料	0.1
(14)精製水	残量
計	100.0

16

【0051】実施例8 クリーム *分散し、75°Cに保ち水相とする。油相に水相を加えて乳
下記処方に従い、成分(1)~(9)を加熱溶解して混合し、 化分散し、成分(13)を加えてかき混ぜながら30°Cまで冷
70°Cに保ち油相とする。成分(10)~(12)を(14)に均一に* 却してクリームを製造した。

(組成)	(重量%)
(1) 製造例5で得たPodophyllum peltatum抽出物	1.0
(2) スクワラン	5.5
(3) オリーブ油	3.0
(4) ステアリン酸	2.0
(5) ミツロウ	2.0
(6) ミリスチン酸オクチルドデシル	3.5
(7) ポリオキシエチレン(20)セチルエーテル	3.0
(8) ベヘニルアルコール	1.5
(9) グリセリンモノステアレート	2.5
(10)1,3-ブチレングリコール	8.5
(11)バラオキシ安息香酸メチル	0.2
(12)バラオキシ安息香酸エチル	0.2
(13)香料	0.1
(14)精製水	残量
計	100.0

【0052】実施例9 クリーム(水中油型エマルシ ユン) ※ ユン)

下記成分を常法に従って混合し、クリームを製造した。

下記成分を常法に従って混合し、クリームを製造した。

(組成)	(重量%)
製造例6で得たPodophyllum lunemodi抽出物	0.25
ステアリン酸グリセリド	2.00
ポリソルバート60 (ICI社製ツイーン60)	1.00
ステアリン酸	1.40
メトロニダゾール	1.00
トリエタノールアミン	0.70
カルボメール	0.40
カリテナッツバターの液体成分	12.00
ワセリン油	12.00
酸化防止剤	0.05
香料	0.50
防腐剤	0.30
精製水	残量
計	100.00

40

【0053】実施例10 クリーム(水中油型エマルシ※
(組成)

(重量%)

製造例7で得たPodophyllum pleianthum抽出物	0.25
ステアリン酸グリセリド	2.00
ポリソルバート60 (ICI社製ツイーン60)	1.00
ステアリン酸	1.40
グリチルレチン酸	2.00
トリエタノールアミン	0.70
カルボメール	0.40
カリテナツツバターの液体成分	12.00
ひまわり油	10.00
酸化防止剤	0.05
香料	0.50
防腐剤	0.30
セラミド	0.10
精製水	残量

計 100.00

【0054】実施例11 錠剤

下記成分を用い、常法に従って錠剤を製造した。

	(mg)	
製造例1で得たBerberis aristata抽出物	20	
デンプン	130	20
ステアリン酸マグネシウム	10	
乳糖	40	
計	200	

* して圧縮成型した後粉碎し、(3)及び(2)の残量を加えて混合し、打錠機にて圧縮成型して1錠200mgの錠剤を製造した。

【0055】実施例12 錠剤

下記成分を均一に混合し、打錠機にて圧縮成型して1錠200mgの錠剤を製造した。

	(g)	
コーンスターチ	44.0	
結晶セルロース	40.0	
カルボキシメチルセルロースカルシウム	5.0	30
軽質無水ケイ酸	0.5	
ステアリン酸マグネシウム	0.5	
製造例3で得たBerberis aristata抽出物	10.0	
計	100.0	

【0056】実施例13 錠剤

下記処方に従い、(1)、(4)及び(2)の一部を均一に混合 *

	(g)
(1)結晶セルロース	84.5
(2)ステアリン酸マグネシウム	0.5
(3)カルボキシメチルセルロースカルシウム	5.0
(4)製造例5で得たPodophyllum peltatum抽出物	10.0
計	100.0

【0057】実施例14 顆粒剤

下記成分を均一に混合し、捏和し、押出し造粒機により造粒後、乾燥し、篩別して、顆粒剤を製造した。

	(g)
結晶セルロース	55
10%ヒドロキシプロピルセルロース	
エタノール溶液	35
製造例6で得たPodophyllum lumemodii抽出物	10
計	100

【0058】実施例15 カプセル剤

50 下記成分を均一に混合し、200mgを2号カプセルに充填

した。

	(g)
コーンスターチ	89.5
軽質無水ケイ酸	0.5
製造例7で得た <i>Podophyllum peltatum</i> 抽出物	10.0
計	100.0

【0059】実施例16 注射剤

下記処方に従い、(5)を(1)及び(3)に溶解し、これに(2)と(4)の溶液を加えて乳化し、注射剤を製造した。

	(g)
(1)大豆油	5.0
(2)注射用蒸留水	89.5
(3)大豆リン脂質	2.5
(4)グリセリン	2.0
(5)製造例1で得た <i>Berberis aristata</i> 抽出物	1.0
計	100.0

【0060】

【発明の効果】メギ科植物又はその抽出物は、細胞毒性*

10 *が低く、優れた細胞接着抑制作用を有し、抗アレルギー剤、抗炎症剤、癌転移抑制剤、免疫抑制剤、慢性関節リウマチ及び／又は慢性関節炎予防治療剤、動脈硬化症予防治療剤として有用である。従って、これを有効成分として含有する製剤は、その細胞接着抑制作用及びその他の作用に基づき、気管支炎、喘息、アレルギー性鼻炎、痛風、慢性関節炎、腎炎、肝炎、乾癬、じんましん、接触皮膚炎、アトピー性皮膚炎、UV炎症、慢性関節リウマチ、花粉症、虚血再灌流障害、急性呼吸窮迫症候群、自己免疫疾患、動脈硬化、潰瘍性大腸炎、敗血症ショック、外傷、火傷、各種癌転移、急性肺胞障害等の予防、治療に広く用いることができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

A61K 35/78

識別記号

ABX

ADS

F I

A61K 35/78

ABX

ADS

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.